Iranian Journal of Field Crops Research
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

CC BY

Research Article
Vol. 20, No. 4, Winter 2023, p. 435-449

Effect of Nano Silicon and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Biomass, Nodulation and Some Physiological Traits of Grasspea (*Lathyrus sativus* L.)

R. Seyed Sharifi[1*], R. Seyed Sharifi[2], H. Narimani[3]

Received: 26-02-2022 Revised: 03-05-2022 Accepted: 07-05-2022	**How to cite this article:** Seyed Sharifi, R., Seyed Sharifi, R., & Narimani, H. (2023). Effect of Nano Silicon and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Biomass, Nodulation and Some Physiological Traits of Grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research, 20*(4), 435-449. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jcesc.2022.75528.1149

Introduction

Grasspea (*Lathyrus sativus* L.) is one of the most important forage crops in the world. It contains 12 to 20% protein. Silicon (Si) existing in the Earth's crust is classified as the most abundant element after oxygen. Although silicon is not considered an essential element for plant growth, but a number of studies have reported that it as an important factor in plants that plays an important role in the resistance mechanisms of plants against environmental stress. Also, it plays a crucial physiological role in photosynthetic rate and chlorophyll content. One of the most effective factors in increasing the Grasspea biomass is seed inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Some of the benefits provided by PGPR are the ability to produce gibberellic acid, cytokinins and ethylene, N_2 fixation, solubilization of mineral phosphates and other nutrients. Numerous studies have shown a substantial increase in dry matter accumulation via inoculation with PGPR. Some researchers reported that seed inoculation with PGPR enhanced relative water content and photochemical efficiency of PSII lathyrus under water limitations. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of nano silicon and seed inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on biomass, nodulation and some physiological traits of Grasspea.

Materials and Methods

In order to study the effect of nano silicon and plant growth-promoting rhizobacteria on biomass, nodulation and some physiological traits of Grasspea, a factorial experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications in research farm of University of Mohaghegh Ardabili in 2021. Treatment were included application of plant growth-promoting rhizobacteria at four levels (no inoculation as control, seed inoculation with *Azosprillum lipoferum* strain OF, *Psedomonas putida* strain 186, both application of *Azospirillium* and *Pseudomonas*) and nano silicon foliar application at four levels (foliar application with water as control, foliar application 25, 50 and 75 mg.L^{-1} nano silicon). The area is located at 38° 15′ N latitude and 48° 20′ E longitude with an elevation of 1350 m above mean sea level. Climatically, the area is situated in the wet zone with cool winter and hot summer. For inoculation, seeds were coated with gum Arabic as an adhesive and rolled into the suspension of bacteria until uniformly coated. Seeds were inoculated with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) at the rate of approximately 1×10^7 colony forming units (CFU) mg^{-1} just before planting. Foliar application of nano silicon was conducted in two stages of vegetative growth. Nano silicon powder added to deionized water and was placed on ultra sonic equipment (100 W and 40 kHz) on a shaker for better solution. At the Flowering stage, the leaves of plants were selected to measure the stem and leaf protein, chlorophyll index, RWC (relative water content), quantum yield, stomatal conductance and EC (electrical conductivity).

1- Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3- Ph.D Student, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
(*- Corresponding Author Email: raouf_ssharifi@yahoo.com)
https://doi.org/10.22067/jcesc.2022.75528.1149

RWC was calculated based on method of Kostopoulou *et al*. (2010). Chlorophyll Index was calculated by chlorophyll meter (SPAD-502; Konica Minolta Sensing, Inc., Japan). The Quantum yield of leaves was calculated with fluorometer (chlorophyll fluorometer; Optic Science-OS-30 USA). Stomata conductance was measured with a porometer system (Porometer AP4, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK) according to the instructions in its manual. Leaf electrical conductivity (EC) values were measured at room temperature of 23±1°C using an electrical-conductivity meter. Analysis of variance and mean comparisons were performed using SAS 9.1 computer software packages. The main effects and interactions were tested using the least significant difference (LSD) test at the 0.05 probability level.

Results and Discussion

The results showed that both application of *Azospirillium* and *Pseudomonas* and foliar application of 75 $mg.L^{-1}$ nano silicon increased root weight and volume (40.4 and 41.9%), number of active nodules (81.2%), percentage of active nodules (33.2%), nodule dry weight (37.4%), chlorophyll index (46%), relative water content (46.3%), stomatal conductance (34.6%) and quantum yield (34.1%) in comparison with no application of PGPR and nano silicon. Also, the highest leaf and stem protein (23.37 and 12.66%) and total biomass (37.7 %) were obtained in both application of *Azospirillium* and *Pseudomonas* and foliar application of 75 $mg.L^{-1}$ nano silicon in comparison with no application of PGPR and nano silicon.

Conclusion

It seems that application of PGPR and foliar application of nano silicon can increase biomass of *Lathyrus sativus* due to nodulation and improving physiological traits.

Keywords: Active nodules, *Azospirillium*, *Pseudomonas*, Quantum yield, Relative water content

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ٤، زمستان ١٤٠١، ص ٤٤٩-٤٣٥

تاثیر نانوسیلیکون و باکتری‌های محرک رشد بر زیست‌توده، گره‌زایی و برخی صفات فیزیولوژیک خلر (*Lathyrus sativus* L.)

رئوف سید شریفی[۱]*، رضا سید شریفی[۲]، حامد نریمانی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۱۷

چکیده

خلر یک گیاه فراموش شده است که تولید آن در کشاورزی پایدار اهمیت دارد. از این‌رو به‌منظور بررسی تاثیر نانوسیلیکون و باکتری‌های محرک رشد بر زیست‌توده، گره‌زایی و برخی صفات فیزیولوژیک خلر، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل کاربرد کودهای زیستی در چهار سطح (عدم تلقیح به‌عنوان شاهد، تلقیح بذر با آزوسپریلیوم، سودوموناس، کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس) و محلول‌پاشی نانوسیلیکون در چهار سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون) بود. نتایج نشان داد که کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون وزن و حجم ریشه (به‌ترتیب ۴۰/۴ و ۴۱/۹٪)، تعداد گره‌های فعال (۸۱/۲۵٪)، درصد گره‌های فعال (۳۳/۲٪)، وزن خشک گره (۳۷/۴٪)، شاخص کلروفیل (۴۶٪)، محتوای نسبی آب (۴۶/۳٪)، هدایت روزنه‌ای (۳۴/۶٪) و عملکرد کوانتومی (۳۴/۱٪) را نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون، افزایش داد. همچنین بیش‌ترین درصد پروتئین برگ و ساقه (۲۳/۴ و ۱۲/۷٪) و زیست‌توده کل (۳۴/۷٪) در کاربرد توام آزوسپریلیوم با سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون به‌دست آمد. به‌نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون می‌تواند زیست‌توده کل خلر را به‌واسطه گره‌زایی و بهبود صفات فیزیولوژیکی افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: آزوسپریلیوم، سودوموناس، عملکرد کوانتومی، گره‌های فعال، محتوای نسبی آب

مقدمه

خلر (*Lathyrus sativus* L.) از گیاهان علوفه‌ای یک‌ساله خانواده لگوم‌ها است که به‌دلیل کوتاهی طول دوره رشد و نمو و امکان کشت در زمان‌های مختلف، می‌تواند حتی به‌عنوان کود سبز یا کشت دوم (کشت تابستانه) برای تولید علوفه مورد استفاده قرار گیرد.

خلر به‌دلیل توانایی تثبیت زیستی نیتروژن (Hooker *et al*., 2008)، فراهمی شرایط بهینه برای فعالیت ریز جانداران مفید خاک‌زی (Steenwerh & Belina, 2008; Hooker *et al*., 2008)، تغذیه دام، کاشت در اراضی کم بازده، مقاومت به سرما و کم‌آبی و بهبود حاصلخیزی خاک، از اهمیت خاصی برخوردار است (Seyed Sharifi & Hokmalipour, 2012). ارزش غذایی این گیاه با شبدر (*Trifolium* spp.)، یونجه (*Medicago sativa* L.) و اسپرس (*Onobrychis vicieafolia* L.) برابر بوده و پروتئین آن با توجه به مرحله برداشت، بین ۱۲ تا ۲۰ درصد متغیر است.

ناحیه اطراف سیستم ریشه (رایزوسفر) ناحیه محدودی در خاک بوده که مکان مناسب برای تکثیر میکروارگانیسم‌هایی است که موجب سلامت گیاه و حاصلخیزی خاک می‌شوند. باکتری‌های محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobactria) مانند

۱- استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: raouf_ssharifi@yahoo.com)
https://doi.org/10.22067/jcesc.2022.75528.1149

Azospirillum، *Azotobacter* و *Pseudomonas* از مهم‌ترین ریزو باکتری‌های موثر در بهبود رشد گیاهی است (Ruzzi & Aroca, 2015) که می‌توانند با تقویت ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی و بیولوژی خاک و تاثیر بر بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله حل شدن فسفر، تثبیت نیتروژن، دسترسی به آب و عناصر غذایی، تولید ویتامین‌ها، هورمون‌های گیاهی و تنظیم‌کننده‌های رشدی، به‌عنوان یک روش جایگزین برای کودها و مواد شیمیایی عمل نموده و عملکرد گیاهان را بهبود بخشند. این باکتری‌ها در بهبود محتوای نسبی آب و رنگدانه‌های فتوسنتزی نقش اساسی ایفا می‌کنند (Abdelaal *et al*., 2021) و با تولید ایندول استیک اسید در گره‌های ریشه لگوم و فعال کردن آنزیم پمپ پرتون (H^+ ATPase)، موجب تولید انرژی در گره‌ها و افزایش گره‌زایی می‌شود (Figueiredo *et al*., 2010). عبدالکریم و همکاران (Abdelkarim *et al*., 2018) بیان کردند که باکتری‌های محرک رشد با افزایش تولید هورمون اکسین، بهبود انحلال فسفات، تثبیت نیتروژن و همچنین افزایش گره‌زایی و وزن خشک ریشه، موجب افزایش وزن اندام هوایی خلر می‌شوند. سیدشریفی و همکاران (Seyed Sharifi *et al*., 2020) گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد از طریق کمک به افزایش تعداد گره، کاهش هدایت الکتریکی، افزایش شاخص کلروفیل و عملکرد کوانتومی، موجب افزایش زیست‌توده کل و محتوای پروتئین برگ و ساقه ماشک گل‌خوشه‌ای (*Vicia villosa* Roth) شد. در بررسی خان و همکاران (Khan *et al*., 2020) نیز کاربرد باکتری‌های محرک رشد با انحلال فسفر، تولید اکسین و همچنین افزایش گره‌زایی و وزن ریشه، موجب افزایش محتوای نسبی آب، کلروفیل، پروتئین و در نهایت وزن اندام هوایی در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) شد.

امروزه استفاده از سیلیکون به‌عنوان یک عنصر مفید برای بهبود رشد گیاهان مطرح است که با تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی، موجب بهبود وضعیت گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی شده و در بسیاری از فرآیندهای گیاهی از جمله واکنش‌های اسمزی، فرآیندهای متابولیکی، فیزیولوژی روزنه، فیتوهورمون‌ها و روابط مبدا و مقصد، دخیل بوده (Ahire *et al*., 2021) و با بهبود استحکام مکانیکی گیاه و افزایش مقاومت در برابر انواع مختلف تنش‌های زیستی و غیرزیستی، عملکرد و کیفیت گیاهان زراعی را بهبود می‌بخشد (Yan *et al*., 2018). این عنصر با تحریک ژن گره‌زایی و تاثیر بر بیوسنتز و متابولیسم ترکیبات فنلی از جمله ایزو فلاونوئید، در افزایش گره‌زایی ریشه نقش مهمی ایفا می‌کند (Chung *et al*., 2020). گزارش شده است که کاربرد سیلیکون با بهبود جذب آب از ریشه و افزایش محتوای نسبی آب، موجب افزایش هدایت روزنه‌ای و ظرفیت تثبیت دی‌اکسیدکربن و رشد بهتر گیاه شد (Habibi & Hajiboland, 2013). آل کاهتانی و همکاران (Al-Kahtani *et al*., 2021) گزارش کردند که کاربرد سیلیکون از طریق بهبود ساختار ریشه و جذب عناصر غذایی، کاهش نشت الکترولیت برگ، افزایش کلروفیل و محتوای نسبی آب، موجب افزایش زیست‌توده شد. ساجد گلجه و همکاران (Sajed Gollojeh *et al*., 2020) اظهار داشتند محلول‌پاشی نانوسیلیکون تحت شرایط محدودیت آبی با بهبود شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب و کاهش نشت الکترولیت برگ، موجب افزایش عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در برگ کلزا (*Brassica napus* L.) شد.

عملکرد خلر در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور به‌دلایل مختلفی از جمله کمبود مواد آلی در خاک و ناکافی بودن نزولات، پایین است. از آنجایی‌که کاربرد ریزوبیوم با باکتری‌های محرک رشدی مانند ازتوباکتر و آزوسپریلوم، با کمک به افزایش بازده همزیستی، در بهبود رشد و افزایش گره‌زایی ریشه لگوم‌های مختلفی همچون نخود (*Cicer arietinum* L.) (Verma *et al*., 2010)، باقلا (*Vicia faba* L.) (Dashadi *et al*., 2011) و لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (Yadegari, 2014) موثر بوده است. از این رو به‌دلیل اهمیت خلر در کوتاهی طول دوره رشد و برخورداری از ارزش غذایی مشابه با شبدر، یونجه و اسپرس، و از طرفی نقش نانوسیلیکون و باکتری‌های محرک رشدی در کمک به بهبود شرایط رشدی گیاه و گره‌زایی ریشه و بررسی‌های محدود انجام شده در خصوص برهم‌کنش توام این عوامل، موجب شد تا اثر سیلیکون و باکتری‌های محرک رشد بر زیست‌توده، گره‌زایی و برخی صفات فیزیولوژیک خلر مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی با مختصات جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. محل اجرای آزمایش دارای اقلیم نیمه‌خشک و سرد است. نتایج حاصل از تجزیه ویژگی-های فیزیکو شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در جدول ۱ و شرایط اقلیمی منطقه مورد کشت در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱- مشخصات فیزیکو شیمیایی خاک

Table 1- Soil physico-chemical characteristics

ویژگی Characteristic	روی Zn	پتاسیم K	فسفر P	نیتروژن N	کربن آلی Organic carbon	شن Sand	سیلت Silt	رس Clay	آهک $CaCO_3$	درصد عصاره اشباع Saturated extract	بافت Texture	pH
مقادیر		mg kg^{-1}				٪						
Amount	1.8	212	8.29	0.06	0.62	35	42	23	14.4	49	Loamy	7.8

جدول ۲- مشخصات جوی در طول دوره رشدی خلر

Table 2- Atmospheric characteristics during *Lathyrus sativus* L. growth

Parameter پارامتر	Nov آبان	Oct مهر	Sep شهریور	Aug مرداد	July تیر
Rainfall (mm) بارندگی	28	5	0.6	11.8	3.5
Average temperature (°C) میانگین دما	7.1	12	18.3	20.8	21.3
Total sunny hours جمع ساعات آفتابی	166.5	164	287.5	268.7	309
Mean of relative humidity (درصد) متوسط رطوبت نسبی	71	73	67	59	58

فاکتورهای مورد بررسی شامل باکتری‌های محرک رشد در چهار سطح (عدم تلقیح به‌عنوان شاهد، تلقیح بذر با آزوسپریلیوم، سودوموناس، کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس) و چهار سطح محلول‌پاشی نانوسیلیکون (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون) بود. سویه خالص باکتری‌های سودوموناس (*Psedomunas putida* Strain186) و آزوسپریلیوم (*Azospirillum lipoferum* strain OF) از موسسه خاک و آب تهیه شدند. هر گرم از مایه تلقیح این باکتری‌ها حاوی ۱۰^{۷} باکتری زنده و فعال بود. از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. تمام بذرها به مدت دو ساعت در مایه تلقیح در شرایط تاریکی قرار گرفتند. علاوه بر تلقیح بذر خلر با ریزوبیوم در تمامی واحدهای آزمایشی، با باکتری‌های محرک رشدی نیز بسته به سطح این باکتری‌ها، عمل تلقیح بذر انجام شد. در تابستان بعد از برداشت گندم (*Triticum aestivum* L.) و تهیه زمین، در هشتم مرداد ماه کاشت به‌روش دستی انجام شد. هر واحد آزمایشی به ابعاد شش متر مربع شامل چهار خط کاشت به طول سه متر با فاصله بین ردیفی ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بذر از هم روی ردیف چهار سانتی‌متر (تراکم ۵۰ بوته در متر مربع) بود. در این بررسی از خلر رقم محلی استفاده شد. این رقم به دلیل برخورداری از طول دوره رشدی کوتاه، عملکرد کمی و کیفی نسبتا مناسب و سازگاری با شرایط اقلیمی منطقه، هر ساله توسط کشاورزان کشت می‌شود. نانوسیلیکون (SiO_2-Nano) با اندازه ذرات ۲۰ الی ۳۰ نانومتر محصول شرکت US Research Nanomaterial بود که از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شد و محلول‌پاشی با آن در طول دوره رشد رویشی انجام شد. برای حلالیت بهتر نانوسیلیکون در آب، با استفاده از لرزش و ارتعاشات دستگاه اولتراسونیک (۱۰۰ وات و ۴۰ کیلوهرتز به مدت ۳۰ دقیقه) در آب دیونیزه حل گردید (Prasad *et al.*, 2012). کنترل علف‌های هرز در طول دوره رشد به‌روش دستی انجام شد. در طول دوره رشد کود خاصی استفاده نشد. اولین آبیاری بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی بسته به شرایط محیطی و نیاز گیاه زراعی و بر اساس عرف متداول زارعین محلی انجام شد. به‌منظور امکان برآورد دقیق وزن و حجم ریشه و تعیین اثر تیمارها بر تعداد و وزن خشک گره، گلدان‌هایی با قطر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر در خطوط اصلی هر واحد آزمایشی هم سطح با دیگر خطوط کاشت قرار داده شده و با همان خاک مزرعه پر شدند. آبیاری گلدان‌ها نیز همانند دیگر ردیف‌های کاشت انجام شد. تراکم کاشت در این گلدان‌ها مانند دیگر ردیف‌های کاشت مزرعه در نظر گرفته شد. در مرحله گلدهی، بوته‌های هر گلدان به همراه ریشه به‌طور کامل جدا شده و پس از شستشوی ریشه‌ها، گره‌ها با پنس از ریشه جدا و تعداد آن‌ها تعیین شد. وزن خشک گره‌ها نیز پس از قرارگیری در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵±۷۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (Namvar *et al.*, 2011). معیار تشخیص گره‌های موثر از غیر موثر بر این اساس بود که در برش گره‌ها، گره‌های موثر به رنگ صورتی یا قرمز گوشتی است. این گره‌ها به تعداد کم‌تر ولی درشت‌تر از گره‌های غیر موثر بوده و بر روی محور اصلی ریشه قرار می‌گیرند در حالی‌که گره‌های غیر موثر کوچک‌تر بوده و بر روی ریشه‌های فرعی قرار دارند (Seyed Sharifi & Gholinezhad, 2021). برای تعیین وزن و حجم ریشه‌ها، پس از خارج‌سازی ریشه‌ها از خاک در زمان رسیدگی، ریشه‌ها برای خشک شدن در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت یا بیشتر (تا زمان تثبیت وزن خشک نهایی) قرار داده شد و سپس وزن خشک ریشه با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. حجم ریشه با استفاده از حجم مشخصی از آب در استوانه مدرج اندازه‌گیری شد، طوری‌که اختلاف حجم ایجاد شده پس از ورود ریشه‌ها در آب استوانه مدرج به‌عنوان حجم ریشه منظور شد.

شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (مدل SPAD-502، شرکت Konica Minolta، ژاپن) و هدایت روزنه‌ای برگ با

استفاده از دستگاه پورومتر (Porometer AP4, Delta-T Devices ltd., Cambridge, UK) در هر کرت به‌طور تصادفی روی چهار برگ توسعه‌یافته در مرحله گلدهی اندازه‌گیری شدند. همچنین، عملکرد کوانتومی برگ در مزرعه توسط دستگاه فلورسانس کلروفیل (مدل OS-30p، شرکت OPTI SCIENCES، آمریکا) از هر تیمار به‌طور تصادفی شش برگ توسعه‌یافته (در فاصله زمانی ساعت ۱۰-۸ صبح) در مرحله گلدهی انتخاب و بعد از ۱۵ دقیقه تاریکی توسط کلیپس‌های مخصوص، اندازه‌گیری شد (Kheirizadeh Arough *et al*., 2016). بعد از اندازه‌گیری نیتروژن موجود در برگ و ساقه به روش کجلدال و ضرب آن به ۶/۲۵، محتوای پروتئین برگ و ساقه برآورد شد (Seyed Sharifi & Gholinezhad, 2021).

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) بین ساعت ۱۲-۱۰ روز، از هر کرت پنج برگ توسعه‌یافته در مرحله گلدهی به‌طور تصادفی انتخاب و بعد از قرار دادن در فویل‌های آلومینیومی، داخل کیسه‌های پلاستیکی و روی یخ قرار داده و خیلی سریع به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از رابطه پیشنهادی کوستاپلو و همکاران (Kostopoulou *et al*., 2010) مقدار آن محاسبه شد. به‌منظور اندازه‌گیری هدایت الکتریکی برگ در همان شرایط (مرحله گلدهی) مربوط به اندازه‌گیری درصد محتوای نسبی آب، نمونه‌های برگی در بشرهای محتوی ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر (دارای EC مشخص) به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده و سپس توسط دستگاه EC متر (مدل Mi 180 Bench Meter) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی برگ، سعی شد نمونه‌های برگی از ابعاد یکسانی برخوردار باشد.

عملکرد علوفه در مرحله گلدهی (۸ آبان ماه) با رعایت اثر حاشیه‌ای، از سطحی معادل ۰/۵ مترمربع برداشت شد. نمونه مورد نظر در آزمایشگاه تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۵±۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس توزین گردید. برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

شاخص کلروفیل برگ: برهم‌کنش کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون بر شاخص کلروفیل برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج نشان داد بیش‌ترین شاخص کلروفیل برگ (۵۵/۵۳) در کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس در محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون مشاهده شد که از افزایش ۴۶/۲۸ درصدی نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). احتمال داده می‌شود، سیلیکون با قرار گرفتن در آپوپلاست دیواره‌های خارجی سلول‌های اپیدرمی، علاوه بر استحکام برگ و تولید بافت ناهموار در دو سطح برگ، منجر به تاخیر در پیری و افزایش کلروفیل برگ می‌شود (Khajeh *et al*., 2015). بخشی از افزایش شاخص کلروفیل می‌تواند ناشی از اثر سیلیکون در کاهش نشت الکترولیت و افزایش محتوای نسبی آب (جدول ۵) باشد. در این راستا محققان اظهار داشتند که محلول‌پاشی سیلیکون از طریق بهبود کارایی فتوسیستم II، کاهش نشت الکترولیت و افزایش محتوای نسبی آب (Sarah *et al*., 2021)، موجب افزایش محتوای کلروفیل برگ می‌شود (AL-Aghabary *et al*., 2004). زاروشان و همکاران (Zarooshan *et al*., 2020) اظهار داشتند که نانوسیلیکون با رسوب در سلول‌های روزنه، موجب بهبود سرعت باز و بسته شدن روزنه‌ها و شاخص کلروفیل می‌شود.

بخشی از بهبود شاخص کلروفیل می‌تواند ناشی از تاثیر باکتری‌محرک رشد در دسترسی بیشتر گیاه به نیتروژن و نقش این عنصر در بیوسنتز کلروفیل باشد که موجب می‌شود کلروفیل برگ گیاهان تلقیح شده، افزایش یابد (Bashan *et al*., 2006). برخی پژوهشگران اثر مفید کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر افزایش شاخص کلروفیل را، به کاهش تجزیه کلروفیل به دلیل نقش باکتری‌های محرک رشد حاوی ACC دآمیناز در کاهش ساخت اتیلن، نسبت دادند (Seyed Sharifi & Namvar, 2016). کوستا-سانتوز و همکاران (Costa-Santos *et al*., 2021) اظهار داشتند که باکتری‌های محرک رشد از طریق تنظیم تعادل هورمونی، تسهیل جذب آب و عناصر غذایی و همچنین تقویت ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی خاک موجب کاهش نشت الکترولیت و افزایش عملکرد کوانتومی، هدایت روزنه‌ای، محتوای نسبی آب و در نهایت محتوای کلروفیل گیاهان می‌شود. ویشنوپرادیپ و همکاران (Vishnupradeep *et al*., 2022) نیز بیان کردند که باکتری‌های محرک رشد موجب بهبود وضعیت آبی و محتوای نسبی آب گیاه شد که از این طریق با افزایش هدایت روزنه‌ای و عملکرد کوانتومی و همچنین ساختار غشاء، در نهایت منجر به افزایش محتوای پروتئین و کلروفیل برگ شد. در این بررسی نیز به‌نظر می‌رسد کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون از طریق بهبود محتوای نسبی آب و هدایت روزنه‌ای (جدول ۵)، افزایش وزن و حجم ریشه (جدول ۴)، با گسترش ریشه در حجم وسیعی از خاک و بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه در نهایت به بهبود شاخص کلروفیل (جدول ۵) منجر شده است.

محتوای نسبی آب برگ: برهم‌کنش کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر محلول‌پاشی نانوسیلیکون و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر زیست‌توده، گره‌زایی و برخی صفات فیزیولوژیکی خلر

Table 3- Analysis of variance of the effect of nano silicon foliar application and seed inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on biomass, nodulation, and some physiological traits of grasspea (*Lathyrus sativus* L.)

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات M.S شاخص کلروفیل Chlorophyll index	محتوای نسبی آب Relative water content	هدایت الکتریکی برگ Electrical conductivity	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	عملکرد کوانتومی Quantum yield	پروتئین برگ Leaf protein	پروتئین ساقه Stem protein	زیست‌توده Biomass	وزن خشک گره Nodule dry weight	درصد گره‌های فعال Percentage of active nodules	تعداد گره‌های غیرفعال Number of inactive nodules	تعداد گره‌های فعال Number of active nodules	حجم ریشه Root volume	وزن خشک ریشه Root weight
تکرار Replication	2	403.6**	599**	112**	284.7**	0.017**	75.5**	5.28**	142.1**	0.003**	105.06**	2.28**	17.58**	11.29**	0.197**
باکتری (B) Bacteria	3	187**	386**	34.4**	105.5**	0.03**	37.14**	13.64**	1735.6**	0.028**	294.76**	3.38**	47**	9.1**	0.199**
سیلیکون (N) Silicon	3	267.9**	435**	54.6**	122.5**	0.033**	50.97**	18.98**	5676.9**	0.007**	218.7**	3**	28.83**	18.77**	0.354**
B×N	9	5.9*	9.2*	0.62^{ns}	4.3**	0.00055**	1.21**	0.54**	234.9**	0.005**	4.92*	0.05^{ns}	0.96**	0.62**	0.007**
خطا Error	30	2.15	3.4	0.5	0.42	0.00009	0.15	0.12	65.1	0.0003	2.06	0.09	0.4	0.082	0.002
ضریب تغییرات C.V	-	3.2	7.3	7.1	3.1	4.3	12	4.4	6.2	9.1	8.6	6.4	5.3	11.2	8.7

ns, * and ** are non-significant, significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثرات اصلی نانوسیلیکون و باکتری‌های محرک رشد بر تعداد گره‌های غیرفعال و هدایت الکتریکی خلر

Table 4- Means comparison of main effects of nano silicon and plant growth-promoting rhizobacteria on the number of inactive nodules and electrical conductivity of grasspea (*Lathyrus sativus* L.)

تیمار Treatment	تعداد گره‌های غیرفعال Number of inactive nodules (per plant)	هدایت الکتریکی برگ Electrical conductivity (µS. cm^{-1})	تیمار Treatment	تعداد گره‌های غیر فعال Number of inactive nodules (per plant)	هدایت الکتریکی برگ Electrical conductivity (µS. cm^{-1})
N_1	4.95	20.66	B_1	5.01	21.46
N_2	4.63	19.47	B_2	4.56	19.46
N_3	4.38	18.67	B_3	4.29	18.08
N_4	3.7	16.63	B_4	3.81	16.43
LSD	0.253	0.591	LSD	0.26	0.6

B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب عدم تلقیح به‌عنوان شاهد، تلقیح بذر با آزوسپریلیوم، سودوموناس و کاربرد همزمان آزوسپریلیوم و سودوموناس.

N_1، N_2، N_3 و N_4 به‌ترتیب عدم مصرف یا محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون LSD با هم ندارند.

B_1, B_2, B_3 and B_4 are no inoculation as control, seed inoculation with *Azospirillium*, *Pseudomonas* and both application of *Azospirillium* and *Pseudomonas* respectively.

N_1, N_2, N_3 and N_4 no foliar application, foliar application 25, 50 and 75 mg. l^{-1} Nano silicon respectively.

Means with similar letters in each column are not significantly different based on the LSD test.

جدول ۵- مقایسه میانگین تاثیر محلول‌پاشی نانوسیلیکون و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر زیست‌توده، گره‌زایی و برخی صفات فیزیولوژیک خلر

Table 5- Means comparison of effects of foliar application Nano silicon and seed inoculation with growth-promoting bacteria on biomass, nodulation and some physiological traits of grasspea (*Lathyrus sativus* L.)

ترکیب Treatments	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance ($mmol.m^{-2} s^{-1}$)	عملکرد کوانتومی Quantum yield	پروتئین برگ Leaf protein (%)	پروتئین ساقه Stem protein (%)	زیست توده Biomass ($g.m^{-2}$)	وزن خشک گره Nodule dry weight (g per plant)	درصد گره‌های فعال Active nodules (%)	تعداد گره‌های فعال Number of active nodules (per plant)	حجم ریشه Root volume (cm^3 per plant)	وزن خشک ریشه Root weight (g per plant)
$B_1 \times N_1$	37.96	63.33	22.16	0.606	15.57	7.95	219.17	0.516	63.24	9.44	1.33	1.579
$B_1 \times N_2$	40.46	68.43	23.96	0.635	17.17	8.8	241.27	0.56	67.04	10.27	11.35	1.687
$B_1 \times N_3$	41.2	69.53	25.13	0.674	17.83	9.08	223.13	0.554	70.08	11.55	10.89	1.614
$B_1 \times N_4$	47	77.8	29.36	0.722	19.71	10.78	271.97	0.523	75.83	13.66	13.68	2.004
$B_2 \times N_1$	38.93	65.56	23.26	0.622	15.95	8.24	234.07	0.654	69.7	11.72	10.52	1.654
$B_2 \times N_2$	42.96	72.86	26.13	0.654	16.98	8.8	260.9	0.629	72.47	12.61	12.44	1.886
$B_2 \times N_3$	45.23	73.43	27.5	0.688	18.86	10.4	251	0.622	73.17	12.77	12.35	1.752
$B_2 \times N_4$	49.53	78.33	31.2	0.745	20.27	11.15	278.23	0.642	78.67	15	13.79	2.055
$B_3 \times N_1$	39.93	67.73	24.06	0.65	16.32	8.6	231.13	0.531	70.78	12.27	11.74	1.791
$B_3 \times N_2$	46.33	78.76	29.6	0.734	19.43	9.74	244.4	0.628	74.39	13.44	13.01	1.96
$B_3 \times N_3$	48.93	81.8	31.3	0.762	21.87	10.49	231.3	0.549	79.03	15.77	12.34	1.762
$B_3 \times N_4$	53.46	86.26	33.46	0.799	21.96	11.81	283.27	0.68	81.22	16.16	14.35	2.103
$B_4 \times N_1$	43.2	74.66	27.93	0.699	18.49	9.65	237.6	0.615	75.96	14.11	11.83	1.833
$B_4 \times N_2$	51.03	83.46	31.53	0.767	21.21	11.9	259.43	0.605	80.19	15.61	14.41	2.146
$B_4 \times N_3$	53.5	83.66	33.66	0.792	22.43	12.28	275.77	0.655	82.97	16.66	13.55	1.922
$B_4 \times N_4$	55.53	87.23	34.63	0.813	23.37	12.66	295.33	0.709	84.27	17.11	14.66	2.217
LSD	2.449	3.116	1.084	0.016	0.65	0.581	13.455	0.0322	2.395	1.061	0.478	0.0803

B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب عدم تلقیح به‌عنوان شاهد، تلقیح بذر با آزوسپریلیوم، سودوموناس و کاربرد همزمان آزوسپریلیوم و سودوموناس. N_1، N_2، N_3 و N_4 به‌ترتیب عدم مصرف یا محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون LSD با هم ندارند.

B_1, B_2, B_3, and B_4 are no inoculation as control, seed inoculation with *Azospirillium*, *Pseudomonas*, and both application of *Azospirillium* and *Pseudomonas* respectively.
N_1, N_2, N_3, and N_4 no foliar application, foliar application 25, 50, and 75 mg. l^{-1} Nano silicon respectively.
Means with similar letters in each column are not significantly different based on the LSD test.

نتایج نشان داد که کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس با ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون، دارای بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ (۷۸/۲۳٪)، و از افزایش ۳۷/۷۳ درصدی نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). به‌نظر می‌رسد بخشی از بهبود محتوای نسبی آب برگ در کاربرد سیلیکون ناشی از اثر این عامل در افزایش وزن و حجم ریشه باشد (جدول ۵) که با گسترش ریشه‌ها در حجم وسیعی از خاک، امکان دسترسی به آب در بخش‌های بیشتری از خاک را فراهم می‌سازد. آل کاهتانی و همکاران (Al-Kahtani *et al*., 2021) افزایش محتوای نسبی آب به‌واسطه کاربرد سیلیکون را، به بهبود ساختار ریشه و کمک به جذب عناصر غذایی، افزایش محتوای کلروفیل و کاهش نشت الکترولیت برگ نسبت دادند. نتایج مشابهی نیز توسط سارا و همکاران (Sarah *et al*., 2021)، گوداس و موفتاح (Qados & Moftah, 2015) مبنی بر افزایش محتوای نسبی آب برگ لوبیا و باقلا به‌واسطه محلول‌پاشی با سیلیکون گزارش شده است.

اظهار شده است که سیلیکون با رسوب در زیر لایه کوتیکولی (با ضخامت ۰/۱ میکرومتر) برگ و تشکیل لایه دوگانه کوتیکول–سیلیس و در نتیجه افزایش ضخامت لایه کوتیکولی و موم آن، موجب کاهش تعرق از سطح برگ و پوست گیاهی می‌شود و نتیجه این عمل افزایش محتوای نسبی آب، توسعه برگی و افزایش تولید ماده خشک است (Ma & Yamaji, 2006). ویشنوپرادیپ و همکاران (Vishnupradeep *et al*., 2022) نیز افزایش محتوای نسبی آب تحت شرایط کاربرد باکتری‌های محرک رشد را به اثرات این باکتری‌ها در گسترش وزن و حجم ریشه نسبت دادند که از طریق بهبود وضعیت آبی گیاه، موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ شد. در این زمینه سالم و همکاران (Saleem *et al*., 2021) اظهار داشتند که باکتری‌های محرک از طریق بهبود ساختار ریشه و گسترش آن در حجم وسیعی از خاک، موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ ذرت (*Zea mays* L.) شد.

هدایت الکتریکی برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون بر هدایت الکتریکی برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس موجب کاهش ۲۴/۲۳ درصدی هدایت الکتریکی نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد، و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون موجب کاهش ۳۰/۶۱ درصدی نسبت به عدم محلول‌پاشی نانوسیلیکون شد (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد از طریق بهبود وزن و حجم ریشه و محتوای نسبی آب (جدول ۵)، تا حد زیادی می‌توانند آسیب وارده به غشاء را کاهش داده و به کاهش هدایت الکتریکی کمک کنند. عبدالهی آرپناهی و همکاران (Abdollahi Arpanahi *et al*., 2019) نیز کاهش نشت الکترولیت برگ آویشن (*Thymus daenensis* Celak.) به‌واسطه کاربرد باکتری‌های محرک رشد را، به بهبود وضعیت آبی و شرایط فتوسنتزی گیاه نسبت دادند. باتول و همکاران (Batool *et al*., 2020) اظهار داشتند که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد با بهبود محتوای نسبی آب و افزایش سرعت فتوسنتز از طریق افزایش هدایت روزنه‌ای، موجب افزایش پایداری غشاء و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و هدایت الکتریکی می‌شود.

از آنجایی که سیلیکون یک عنصر غیر متحرک در درون گیاه است که پس از رسوب در داخل سلول به‌صورت ژل پلیمرشده درآمده و برای گیاه غیرقابل استفاده می‌شود از این رو نقش استحکامی و پایداری را داشته و موجب کاهش میزان نشت الکترولیت در گیاه می‌شود (Liang *et al*., 2007). برخی پژوهشگران معتقدند که سیلیکون به‌عنوان یک مولکون پیام‌رسان با افزایش توان دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، خسارت ناشی از گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و نشت یونی را کاهش می‌دهد (Moussa, 2006). زارع و همکاران (Zare *et al*., 2015) اظهار داشتند که در گیاهچه‌های ذرت تحت تنش شوری، نانوسیلیکون با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، موجب کاهش هدایت الکتریکی ذرت شد. بخشی از بهبود هدایت الکتریکی به‌واسطه کاربرد سیلیکون میتواند ناشی از تاثیر این ماده در افزایش محتوای نسبی آب باشد (جدول ۵). در این راستا ساجد گلجه و همکاران (Sajed Gollojeh *et al*., 2020) علت اصلی کاهش نشت الکترولیت برگ کلزا در طی محلول‌پاشی با نانوسیلیکون را، به افزایش محتوای نسبی آب نسبت دادند.

هدایت روزنه‌ای برگ: نتایج نشان داد کاربرد توام آزوسپریلیوم با سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون دارای بیش‌ترین هدایت روزنه‌ای برگ (۳۴/۶۳ $mmol.m^{-2}.s^{-1}$) بود (جدول ۵) و از افزایش ۵۶/۲۷ درصدی نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). به‌نظر می‌رسد رسوب سیلیکون در برگ‌ها به‌ویژه در سلول‌های محافظ روزنه با تغییر در طول و عرض روزنه (Morikawa *et al*., 2004) موجب می‌شود که هدایت روزنه‌ای تحت تاثیر قرار گیرد. از طرف دیگر، سیلیکون انتقال یون به داخل سلول محافظ روزنه را تعدیل کرده و از این طریق واکنش‌های نوری روزنه و حرکت روزنه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این پاسخ احتمالا توسط چهار پدیده مختلف شامل: ۱) دریافت سیگنال، ۲) ایجاد شیب الکتروشیمیایی در سرتاسر غشاء سلول روزنه، ۳) جابه‌جایی یون‌ها و

به‌دنبال آن تغییرات در فشار اسمزی و ۴) تنظیمات هیدرولیکی مرتبط با حرکات روزنه، میانجی‌گری می‌کند (Agarie *et al*., 1998). در این راستا، زاروشان و همکاران (Zarooshan *et al*., 2020) بیان کردند که نانوسیلیکون با کمک به افزایش جذب آب و بهبود محتوای نسبی آب برگ و همچنین با رسوب در سلول‌های نگهبان روزنه، موجب افزایش سختی دیواره و باز ماندن روزنه می‌شود، که در چنین شرایطی با بهبود سرعت باز و بسته شدن روزنه‌ها، موجب افزایش هدایت روزنه‌ای می‌شود. حبیبی و حاجی بلند (Habibi & Hajiboland, 2013) نیز اظهار داشتند که کاربرد سیلیکون با بهبود جذب آب از ریشه و افزایش محتوای نسبی آب، موجب افزایش هدایت روزنه‌ای و بهبود ظرفیت تثبیت دی‌اکسیدکربن می‌شود.

بخشی از بهبود هدایت روزنه‌ای برگ به‌واسطه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد را می‌توان به افزایش وزن و حجم ریشه و در نتیجه بهبود محتوای نسبی آب (جدول ۵) نسبت داد. در این راستا بتول و همکاران (Batool *et al*., 2020) بیان کردند که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد از طریق توسعه بهتر ریشه و افزایش پایداری غشاء، موجب افزایش محتوای نسبی آب و در نهایت افزایش هدایت روزنه‌ای شد. برخی محققین اظهار داشتند که باکتری‌های محرک رشد به‌دلیل گسترش ریشه و دسترسی بهتر گیاه به منابع آبی، ضمن بهبود محتوای نسبی آب برگ‌ها و کاهش آبسیزیک اسید، موجب افزایش هدایت روزنه‌ای برگ می‌شود (Kheirizadeh Arough *et al*., 2019).

عملکرد کوانتومی برگ: نتایج نشان داد که کاربرد توام باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوسیلیکون بر عملکرد کوانتومی برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بیش‌ترین عملکرد کوانتومی برگ (۰/۸۱۳) در کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون مشاهده شد (جدول ۵)، که از افزایش ۳۴/۱۵ درصدی نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). به‌نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد با کاهش ساخت اتیلن و جلوگیری از تجزیه کلروفیل، و همچنین افزایش وزن و حجم ریشه (جدول ۵) منجر به افزایش دسترسی به آب و مواد غذایی شده و از این طریق موجب افزایش عملکرد کوانتومی می‌شود (Seyed Sharifi & Namvar, 2016). کوستا سانتوز و همکاران (Costa-Santos *et al*., 2021) اظهار داشتند باکتری‌های محرک رشد با تنظیم تعادل هورمونی و تسهیل جذب آب و عناصر غذایی، ضمن افزایش کلروفیل و محتوای نسبی آب موجب می‌شود که هدایت روزنه‌ای و عملکرد کوانتومی افزایش یابد. خیری‌زاده آروق و سیدشریفی (Kheirizadeh Arough & Seyed Sharifi, 2018) علت افزایش عملکرد کوانتومی با کاربرد باکتری‌های محرک رشد را به استفاده مطلوب‌تر از رطوبت خاک، افزایش محتوای نسبی آب و هدایت روزنه‌ای و کاهش هدایت الکتریکی نسبت دادند. مهربان جوبانی و همکاران (Mehraban Joubani *et al*., 2019) دلیل افزایش عملکرد کوانتومی برنج (*Oryza sativa* L.) در کاربرد نانوسیلیکون را به بهبود رشد و افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت دادند. در این بررسی کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون از طریق بهبود محتوای نسبی آب، شاخص کلروفیل و هدایت روزنه‌ای (جدول ۵)، موجب افزایش پایداری غشاء یا کاهش هدایت الکتریکی شده (جدول ۴) و در نهایت منجر به بهبود عملکرد کوانتومی شد (جدول ۵).

درصد پروتئین برگ و ساقه: برهم‌کنش باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون بر درصد پروتئین برگ و ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). طوری‌که کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون با برخورداری از بیش‌ترین درصد پروتئین برگ و ساقه (به‌ترتیب ۲۳/۳۷ و ۱۲/۶۶ %) (جدول ۵)، از افزایش ۴۸/۸ و ۵۹/۲۴ درصدی نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). نیتروژن عنصر ضروری در ساخت اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌باشد و به‌نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد با کمک به تثبیت بیولوژیکی نیتروژن موجب می‌شود که آمونیم حاصل از همزیستی با باکتری‌ها در ادامه به شکل آمینو اسید در تشکیل پروتئین مورد استفاده قرار گیرد (Naveed *et al*., 2015). همچنین، این باکتری‌ها ترکیبات نیتروژنه ایجاد شده از تثبیت نیتروژن در گره‌های ریشه به شکل آلانتوئین و اسیدهای آلانتوئیک را به برگ منتقل کرده و می‌توانند برای بیوسنتز کلروفیل و پروتئین‌ها استفاده کنند (Bejandi *et al*., 2012). برخی محققان دلیل افزایش محتوای پروتئین در برگ و ساقه گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های محرک رشدی را، به اثر این باکتری‌ها در افزایش میزان کل نیتروژن در بافت گیاهی (Verma *et al*., 2010) و برخی دیگر به افزایش جذب آمونیوم و نیترات نسبت دادند (Maougal *et al*., 2014).

افزایش پروتئین‌های محلول در کاربرد سیلیکون احتمالا با سنتز پروتئین‌های جدید و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با تحمل به تنش و یا با نقش این عنصر در مقابله با تنش اکسیداتیو در ارتباط باشد (Gong *et al*., 2008). دانائی و عبدوسی (Danaee & Abdossi, 2021) افزایش محتوای پروتئین با کاربرد نانوسیلیکون را به بهبود وزن ریشه نسبت دادند که می‌تواند با کمک به جذب بیشتر عناصر از خاک، منجر به افزایش محتوای پروتئین شود. بخشی از افزایش درصد پروتئین برگ و ساقه به‌واسطه محلول‌پاشی نانوسیلیکون ناشی از بهبود وزن و حجم ریشه، محتوای نسبی آب،

شاخص کلروفیل و هدایت روزنه‌ای است (جدول ۵) و در این راستا زاروشان و همکاران (Zarooshan *et al*., 2020) بیان کردند که نانوسیلیکون با افزایش جذب آب و بهبود محتوای نسبی آب برگ و همچنین با رسوب در سلول‌های نگهبان روزنه، ضمن افزایش هدایت روزنه‌ای و بهبود شرایط فتوسنتزی گیاه، منجر به افزایش میزان پروتئین می‌شود.

زیست‌توده کل: نتایج نشان داد کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون با دارا بودن بیش‌ترین زیست‌توده (۲۹۵/۳۳ گرم در مترمربع) از افزایش ۳۴/۷۴ درصدی نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). به‌نظر می‌رسد توان باکتری‌های محرک رشد در تثبیت زیستی نیتروژن، با کمک به دسترسی بهتر گیاه به نیتروژن موجب می‌شود تا حضور نیتروژن در بیوسنتز و افزایش محتوای کلروفیل موجب رشد بهتر گیاهان تلقیح‌شده و افزایش محصولات فتوسنتزی شود (Bashan *et al*., 2006). بخشی از افزایش زیست‌توده تولیدی می‌تواند ناشی از افزایش گره‌زایی ریشه (جدول ۵) باشد که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن، حضور این باکتری‌ها از طریق افزایش تولید اکسین و همچنین بهبود انحلال فسفات و گره‌زایی (Abdelkarim *et al*., 2018)، در نهایت به افزایش زیست‌توده خلر کمک می‌کنند. خان و همکاران (Khan *et al*., 2020) بیان کردند باکتری‌های محرک رشد از طریق انحلال فسفر، تولید اکسین و آمونیاک و افزایش گره‌زایی ریشه، ضمن افزایش محتوای پروتئینی، در نهایت موجب افزایش زیست‌توده کل می‌شود. سالم و همکاران (Saleem *et al*., 2021) علت افزایش محتوای زیست‌توده ذرت در کاربرد باکتری‌های محرک را، به تاثیر این کودها در بهبود ساختار ریشه و اندام هوایی، افزایش هدایت روزنه‌ای و محتوای نسبی آب و بهبود شرایط فتوسنتزی گیاه نسبت دادند.

سیلیکون با قرار گرفتن در آپوپلاست دیواره‌های خارجی سلول‌های اپیدرمی، علاوه بر استحکام برگ، موجب تولید بافت ناهمواری در دو سطح برگ شده و این امر با به تاخیر انداختن مرگ برگی و افزایش در محتوای کلروفیل، موجب افزایش درصد پروتئین و زیست‌توده گیاه می‌شود (Khajeh *et al*., 2015). همچنین سیلیکون در ساختار دیواره سلولی ساقه و برگ‌ها وارد می‌شود و موجب استحکام فیزیکی آن‌ها می‌گردد (Liang, 1998) و همین امر می‌تواند با کمک به بهبود افراشتگی گیاه، دریافت نور توسط برگ‌ها را بیشتر نماید که خود محرک رشد بیشتر گیاه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد بخشی از افزایش زیست‌توده در کاربرد سیلیکون، ناشی از افزایش وزن و حجم ریشه باشد (جدول ۵) که با بهبود جذب آب از ریشه و افزایش محتوای نسبی آب و هدایت روزنه‌ای (جدول ۵)، منجر به بهبود شاخص کلروفیل، عملکرد کوانتومی (جدول ۵) و در نهایت افزایش ظرفیت تثبیت دی‌اکسیدکربن و زیست‌توده کل گیاه شد (Habibi & Hajiboland, 2013).

تعداد و وزن خشک گره: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر باکتری‌های محرک رشد، محلول‌پاشی نانوسیلیکون و برهم‌کنش توام این دو عامل بر تعداد و وزن گره در سطح احتمال یک درصد و بر درصد گره‌های فعال در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. تعداد گره‌های غیرفعال تحت اثرات اصلی کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوسیلیکون قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون، دارای بیش‌ترین تعداد و درصد گره‌های فعال (۱۷/۱۱ عدد و ۸۴/۲۷٪) و وزن خشک گره در ریشه (۰/۷۰۹ گرم در بوته) بود (جدول ۵)، طوری‌که این ترکیب تیماری از افزایش به‌ترتیب ۸۱/۲۵، ۳۳/۲۵ و ۳۷/۴ درصدی تعداد، درصد گره‌های فعال و وزن خشک گره نسبت به عدم کاربرد باکتری محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). همچنین تعداد گره‌های غیر فعال، در کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس از کاهش ۳۳/۷۸ نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و در محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون از کاهش ۳۱/۴۹ درصدی نسبت به عدم محلول‌پاشی برخوردار بود (جدول ۴).

پاسخ مثبت در تشکیل گره‌های ریشه ممکن است با اثر مفید سیلیکون بر بیوسنتز و متابولیسم ترکیبات فنلی از جمله ایزوفلاونوئید مرتبط باشد (Zhang *et al*., 2013). در این زمینه گزارش شده است که ایزوفلاونوئیدهای آزاد شده توسط ریشه، به‌عنوان جذب‌کننده‌های برادی ریزوبیوم عمل کرده و با تنظیم بیان ژن‌های گره‌زایی (Nelwamondo & Dakora, 1999; Eckardt, 2006)
، نقش اساسی را در مراحل مختلف فرآیند گره‌زایی ایفا می‌کنند. برخی کاربرد سیلیکون در افزایش گره‌زایی ریشه (تعداد و اندازه گره) سویا (*Glycine max* L.) را، به اثر این ماده در تحریک ژن گره‌زایی و افزایش محتوای ایزوفلاونوئیدها نسبت دادند (Chung *et al*., 2020).

بخشی از گره‌زایی در کاربرد باکتری‌های محرک رشدی می‌تواند ناشی از ایندول استیک اسید تولیدشده توسط باکتری‌های محرک رشد باشد که در گره‌های ریشه لگوم، آنزیم پمپ پرتون (H^+ ATPase) را فعال می‌کند که برای تولید انرژی در گره‌ها و افزایش گره‌زایی مهم است (Figueiredo *et al*., 2010). داس و همکاران (Das *et al*., 2014) نیز اظهار داشتند افزودن کودهای زیستی به محیط ریشه لوبیا فعالیت باکتری‌ها را به‌طور چشمگیری بالا برده و تعداد گره در ریشه را افزایش می‌دهد. افزایش بازده همزیستی ریزوبیوم زمانی‌که بذر لگوم‌ها با باکتری‌های تثبیت‌کننده غیر همزیست مانند ازتوباکتر و آزوسپریلوم تلقیح شده بود در گره‌زایی

ریشه نخود (Verma *et al*., 2010)، باقلا (Dashadi *et al*., 2011) و لوبیا (Yadegari, 2014) گزارش شده است. عبدالکریم و همکاران (Abdelkarim *et al*., 2018) اظهار داشتند که باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش تولید هورمون اکسین و همچنین بهبود انحلال فسفات و تثبیت نیتروژن، موجب افزایش گره‌زایی ریشه خلر می‌شود. خان و همکاران (Khan *et al*., 2020) افزایش گره‌زایی ریشه در شرایط کاربرد باکتری‌های محرک رشد را به انحلال فسفر، تولید اکسین و همچنین افزایش وزن ریشه و توسعه آن در حجم وسیعی از خاک نسبت دادند. نتایج مشابهی نیز در این بررسی به‌دست آمد. به بیانی دیگر در همان ترکیبات تیماری که وزن و حجم ریشه افزایش یافته بود وزن و تعداد گره‌ها نیز حداکثر بود (جدول ۵). سیدشریفی و همکاران (Seyed Sharifi *et al*., 2020) نیز نتایج مشابهی مبنی بر افزایش درصد پروتئین و تعداد گره در ماشک گل‌خوشه‌ای (*Vicia villosa* L.) با کاربرد باکتری‌های محرک رشدی گزارش کردند.

وزن خشک و حجم ریشه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهم‌کنش باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون بر وزن و حجم ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). کاربرد توام آزوسپریلیوم با سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون، دارای بیش‌ترین وزن و حجم ریشه (به‌ترتیب ۲/۲۱۷ گرم در بوته و ۱۴/۶۶ سانتی‌متر مکعب در بوته) بود (جدول ۵)، که به‌ترتیب از افزایش ۴۰/۴ و ۴۱/۹۱ درصدی نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری محرک رشد و نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۵). بخشی از افزایش وزن و حجم ریشه در کاربرد باکتری‌های محرک رشد و سیلیکون می‌تواند ناشی از اثر این عوامل در افزایش تعداد و وزن گره (جدول ۵) باشد که ضمن کمک به تثبیت زیستی و فراهمی بیشتر نیتروژن (Rafiee *et al*., 2010)، منجر به افزایش وزن و حجم ریشه شد. سید شریفی و همکاران (Seyed Sharifi *et al*., 2020) اظهار داشتند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد با کمک به گره‌زایی ریشه، موجب افزایش وزن و حجم ریشه ماشک گل‌خوشه‌ای شد. به‌نظر می‌رسد سیلیکون با حفاظت از استوانه آوندی به‌عنوان یک حامل مکانیکی که باعث سخت شدن بافت آندودرمی می‌شود، رشد طولی ریشه را افزایش می‌دهد (Datnoff *et al*., 2001)، از این‌رو، تغذیه بهینه سیلیکون موجب افزایش سطح کل جذب‌کننده عناصر و در نهایت رشد و توسعه حجمی و وزنی ریشه‌ها می‌شود (Sun *et al*., 2005). برخی پژوهشگران دلیل افزایش وزن و حجم ریشه در محلول‌پاشی نانوسیلیکون را، به اثر این ماده در بهبود فتوسنتز جاری و افزایش انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت دادند (Nazari *et al*., 2021).

نتیجه‌گیری

تلقیح بذر با باکتری‌های آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون با افزایش گره‌زایی ریشه (تعداد و وزن خشک گره) موجب بهبود صفات فیزیولوژیکی خلر نظیر شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب، هدایت روزنه‌ای و عملکرد کوانتومی نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون شد. همچنین، کاربرد توام آزوسپریلیوم و سودوموناس و محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون موجب افزایش ۵۰/۰۹، ۵۹/۲۴ و ۳۴/۷۴ درصدی محتوای پروتئین برگ، ساقه و زیست‌توده کل نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوسیلیکون گردید. به‌نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوسیلیکون می‌تواند زیست‌توده کل خلر را به‌واسطه بهبود صفات فیزیولوژیکی و گره‌زایی ریشه افزایش دهد.

سپاسگزاری

این پژوهش برگرفته از بخشی از طرح مصوب دانشگاه محقق اردبیلی است که نویسندگان بر خود واجب می‌دانند مراتب سپاس و قدردانی خود را از همکاری و مساعدت یکایک همکاران ارجمند در دانشگاه و دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اعلام دارند.

References

1. Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L., & Künstler, A. (2021). The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. *Biology*, *10*, 520. https://doi.org/10.3390%2Fbiology10060520
2. Abdelkarim, S., Jebara, S. H., Saadani, O., Chiboub, M., Abid, G., & Jebara, M. (2018). Effect of Pb-resistant plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on growth and lead uptake by *Lathyrus sativus*. *Journal of Basic Microbiology*, *58*(7), 579-589. 1https://doi.org/10.1002/jobm.201700626
3. Abdollahi Arpanahi, A., Feizian, M., & Mehdipourian, G. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria enhance oil content and physiological status of *Thymus daenensis* Celak. under drought stress. *Journal of Herbal Drugs*, *9*(4), 223-231.
4. Agarie, S., Uchida, H., Agata, W., & Kubota, F. (1998). Effect of silicon on transpiration and leaf conductance in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science*, *1*, 89-95. https://doi.org/10.1626/pps.1.89

5. Ahire, M. L., Mundada, P. S., Nikam, T. D., Bapat, V. A., & Penna, S. (2021). Multifaceted roles of silicon in mitigating environmental stresses in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *169*, 291-310. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.11.010
6. AL-Aghabary, K., Zhujun, Z., & Qinhua, S. (2004). Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plant under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, *27*, 21011-2115. https://doi.org/10.1081/PLN-200034641
7. Al-Kahtani, M. D. F., Hafez, Y. M., Attia, K., Rashwan, E., Al-Husnain, L., Al-Gwaiz, H. I. M., & Abdelaal, K. A. A. (2021). Evaluation of silicon and proline application on the oxidative machinery in drought-stressed sugar beet. *Antioxidants*, *10*(3), 398. https://doi.org/10.3390/antiox10030398
8. Bashan, Y., Bustillos, J. J., Leyva, L. A., Hernandez, J. P., & Bacilio, M. (2006). Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, *42*(4), 279-285.
9. Batool, T., Ali, S., Seleiman, M. F., Naveed, N. H., Ali, A., Ahmed, K., Abid, M., Rizwan, M., Shahid, M. R., Alotaibi, M., Al-Ashkar, I., & Mubushar, M. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. *Scientific Reports*, *10*, 16975. https://doi.org/10.1038%2Fs41598-020-73489-z
10. Bejandi, T., Sharifi, R., Sedghi, M., & Namvar, A. (2012). Effects of plant density rhizobium inoculation and microelements on nodulation chlorophyll content and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Annals of Biological Research*, *3*(2), 951-958.
11. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1-2), 248-254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999.
12. Chung, Y. S., Lee, U., Heo, S., Silva, R. R., & Kim, Y. (2020). Image-based machine learning characterizes root nodule in soybean exposed to silicon. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 520161. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.520161
13. Costa-Santos, M., Mariz-Ponre, N., Dias, M. C., Moura, L., Marques, G., & Santos, C. (2021). Effect of *Bacillus* spp. and *Brevibacillus* sp. on the photosynthesis and redox status of *Solanum lycopersicum*. *Horticulturae*, *7*, 24. https://doi.org/10.3390/horticulturae7020024
14. Danaee, E., & Abdossi, V. (2021). Effects of silicon and nano-silicon on some morpho-physiological and phytochemical traits of peppermint (*Mentha piperita* L.) under salinity stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *37*(1), 98-112. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.343340.2810
15. Dashadi, M., Khosravi, H., Moezzi, A., Nadian, H., & Heidari, M. (2011). Co-inoculation of rhizobium and Azotobacter on growth of faba bean under water deficit conditions. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, *11*(3), 314-319.
16. Das, I., Pradhan, A. K., & Singh, A. (2014). Yield and yield attributing parameters of organically cultivated mung bean as influenced by PGPR and organic manures. *Journal of Crop and Weed*, *10*(1), 172-174.
17. Datnoff, L. E., Synder, G. H., & Korndorfer, G. H. (2001). *Silicon in Agriculture*. Elsevier. Amsterdam.
18. Eckardt, N. A. (2006). The role of flavonoids in root nodule development and auxin transport in *Medicago truncatula*. *The Plant Cell*, *18*(7), 1539-1540. https://doi.org/10.1105%2Ftpc.106.044768
19. Figueiredo, M., Seldin, L., De Araujo, F., & Mariano, R. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: Fundamentals and applications in plant growth and health promoting bacteria. D.K. Maheshwari (ed). *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_2
20. Gong, H. J., Chen, K. M., & Zhao, Z. G. (2008). Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. *Biologia Plantarum*, *52*, 592-596. https://doi.org/10.1007/s10535-008-0118-0
21. Habibi,G., & Hajiboland, R. (2013). Alleviation of drought stress by silicon supplementation in pistachio (*Pistacia vera* L.) plants. *Folia Horticulturae*, *25*(1), 21-29. https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0003
22. Hooker, K. V., Coxon, C. E., Hackett, R., Kirwan, L. E., O'Keeffe, E., & Richards, K. G. (2008). Evaluation of cover crop and reduced cultivation for reducing nitrate leaching in Ireland. *Journal of Environmental Quality*, *37*(1), 138-145. https://doi.org/10.2134/jeq2006.0547
23. Khajeh, M., Mousavi Nik, S. M., Sirousmehr, A., Yadollah Dehcheshmeh, P., & Amiri, A. (2015). Effect of drought stress and foliar application of silicon on grain yield and photosynthetic pigments of wheat under Sistan conditions. *Crop Physiology Journal*, *7*(26), 5-19. (in Persian).
24. Khan, N., Bani, A. M. D., & Babar, A. (2020). Impacts of plant growth promoters and plant growth regulators on rainfed agriculture. *PLOS ONE*, *15*(4), e0231426. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231426
25. Kheirizadeh Arough, Y., & Seyed Sharifi, R. (2018). Effects of bio fertilizers and zinc on yield, variations of quantum yield, stomatal conductance and some physiological traits of triticale (*Triticosecale*) under withholding conditions. *Journal of Process and Function*, *7*(26), 57-74. (in Persian with English abstract).

26. Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., & Khalilzadeh, R. (2019). Alleviation of salt stress effects in triticale (× *Triticosecale*) by bio fertilizers and zinc application. *Journal of Plant Research*, *31*(4), 801-821. (in Persian with English abstract).
27. Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., & Barmaki, M. (2016). Effect of zinc and bio fertilizers on antioxidant enzymes activity, chlorophyll content, soluble sugars and proline in Triticale under salinity condition. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *44*(1), 116-124. http://doi.org/10.15835/nbha44110224
28. Kostopoulou, P., Barbayiannis, N., & Basile, N. (2010). Water relations of yellow sweet clover under the synergy of drought and selenium addition. *Plant and Soil 330*, (1), 65-71. https://doi.org/10.1007/s11104-009-0176-x
29. Liang, Y. C. 1998. Effects of silicon on leaf ultrastructure, chlorophyll content and photosynthetic activity in barley under salt stress. *Pedosphere*, *8*, 289-296.
30. Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y., & Christie, P. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants- a review. *Environmental Pollution*, *147*, 422-428. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.008
31. Ma, J. F., & Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends Plant Science*, *11*, 1-6. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.007
32. Maougal, R. T., Brauman, A., Plassard, C., Abadie, J. Djekoun, A., & Drevon, J. J. (2014). Response of *Dahilia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, *10*, 769-775.
33. Mehraban Joubani, P., Barzegar, A., Barzegar Golchini, B., Ramezani Sayyad, A., & Abdolzadeh, A. (2019). Comparison of effects of iron excess and application of silicon on fluorescence of chlorophyll in shoot and developmental changes in root of rice seedlings. *Iranian Journal of Plant Biology*, *11*(3), 17-32. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22108/ijpb.2019.110931.1099
34. Morikawa, C. K., & Saigusa, M. (2004). Mineral composition and accumulation of silicon in tissues of blueberry (*Vaccinum corymbosus* cv. Bluecrop) cuttings. *Plant Soil*, *258*(1), 1-8.
35. Moussa, H. R. (2006). Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, *8*(2), 293-297.
36. Namvar, A., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., Asghari Zakaria, R., Khandan, T., & Eskandarpour, B. (2011). Study on the effects of organic and inorganic nitrogen fertilizer on yield, yield components, and nodulation state of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *42*(9), 1097-1109. https://doi.org/10.1080/00103624.2011.562587
37. Naveed, M., Mehboob, I., Hussain, M. B., & Zahir, Z. A. (2015). *Perspective of rhizobia inoculation for sustainable crop production*. Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets Publisher: Springer India Editors: N.K. Arora. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8_11
38. Nazari, Zh., Seyed Sharifi, R., & Narimani, H. (2021). Effect of mycorrhiza, vermicompost and nanosilicon on current photosynthesis, dry matter remobilization and their contribution in grain yield of triticale under water limitation conditions. *Crop Physiology Journal*, *13*(51), 5-24. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22069/ejcp.2022.18925.2413
39. Nelwamondo, A., & Dakora, F. D. (1999). Silicon promotes nodule formation and nodule function in symbiotic cowpea (*Vigna unguiculata*). *The New Phytologist*, *142*(3), 463-467. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00409.x
40. Prasad, T. N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T. S., & Sajanlal, P. R. (2012). Effect of nanoscale Zinc-oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, *35*, 905-927. https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443
41. Qados, A., & Moftah, A. E. (2015). Influence of silicon and nano-silicon on germination, Growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress conditions. *American Journal of Experimental Agriculture*, *5*, 509-524. https://doi.org/10.9734/AJEA/2015/14109
42. Rafiee S., & Asadi-Rahmani, H. (2010). Isolation and identification of different species of *Flavobacterium* from the rhizosphere of wheat cultivated in the different regions of Iran. *Journal of Water and Soil*, *24*(2), 254-261. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jsw.v0i0.3242
43. Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulture*, *196*, 124-134. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.042
44. Sajed Gollojeh, K., Khomari, S., Shekhzadeh, P., Sabaghnia, N., & Mohebodini, M. (2020). The effect of foliar spray of nano silicone and salicylic acid on physiological traits and seed yield of spring rapeseed at water limitation conditions. *Journal of Crop Production*, *12*(4), 137-156. (in Persian). https://doi.org/10.22069/ejcp.2020.16396.2221
45. Saleem, M., Nawaz, F., Hussain, M. B., & Ikram, R. M. (2021). Comparative effects of individual and consortia plant growth promoting bacteria on physiological and enzymatic mechanisms to confer drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *21*, 3461-3476.
46. Sarah, M. S., Prado, R. D. M., Júnior, J. P. D. S., Texeira, G. C. M., Duarte, J. C. D. S., & Medeiros, R. L. S. D. (2021). Silicon supplied via foliar application and root to attenuate potassium deficiency in common bean plants.

Scientific Reports, *11*, 190-196. https://doi.org/10.1038/s41598-021-99194-z

47. Seyed Sharifi, R., & Hokmalipour, S. (2012). *Forage Crops*. University of Mohaghrgh Ardabili press. Ardabil. Iran. 508 pp. (in Persian).
48. Seyed Sharifi, R., & Namvar, A. (2016). *Bio fertilizers in Agronomy*. University of Mohaghrgh Ardabili press. Ardabil. Iran. 282 pp. (in Persian).
49. Seyed Sharifi, R., Seyed Sharifi, R., & Narimani, H. (2020). Effect of bio-fertilizers and putrescine on biomass, nodulation, and some morphological and biochemical traits of vetch (*Vicia villosa*) under rainfed condition. *Journal of Crops Improvement*, *22*(4), 513-529. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jci.2020.294125.2316
50. Seyed Sharifi, R., & Gholinezhad, E. (2021). *Evaluation Agronomic and Morphophysiological Traits of Crop Plants*. University of Mohaghrgh Ardabili press. Ardabil. Iran. 400 pp (in Persian).
51. Steenwerth, K., & Belina, K. M. (2008). Cover crops enhance soil organic matter, carbon dynamics and microbiological function in a vineyard agroecosystem. *Applied Soil Ecology*, *40*(2), 359-369. http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.06.006
52. Sun, C. W., Liang, Y. C., & Romheld, V. (2005). Effects of foliar-and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildow in *Cucumis sativus*. *Journal of Plant Pathology*, *54*(5): 678-685. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01246.x
53. Verma, J., Yadav, J., & Tiwari, K. (2010). Application of *Rhizobium* sp. BHURC01 and plant growth promoting Rhizobacteria on nodulation, plant biomass and yield of chick pea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Agricultural Research*, *5*(3), 148-156. https://doi.org/10.3923/ijar.2010.148.156
54. Vishnupradeep, R., Bruno, L. B., Taj, Z., Karthik, C., Challabathula, D., Tripti, Kumar, A., Freitas, H., & Rajkumar, M. (2022). Plant growth promoting bacteria improve growth and phytostabilization potential of *Zea mays* under chromium and drought stress by altering photosynthetic and antioxidant *Technology & Innovation*, *25*, 102154. http://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102154
55. Yadegari, M. (2014). Inoculation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds with rhizobium phaseoli and plant growth promoting rhizobacteria. *Advances in Environmental Biology*, *8*(2), 419-424.
56. Yan, G., Nikolic, M., Ye, M., Xiao, Z., & Liang, Y. (2018). Silicon acquisition and accumulation in plant and its significance for agriculture. *Journal of Integrative Agriculture*, *17*(10), 2138-2150. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62037-4
57. Zare, H., Ghanbarzadeh, Z., Behdad, A., & Mohsenzadeh, S. (2015). Effect of silicon and nanosilicon on reduction of damage caused by salt stress in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Iranian Journal of Plant Biology*, *7*, 59-74. (in Persian with English abstract). https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088264.1394.7.26.6.8
58. Zarooshan, M., Abdilzadeh, A., Sadeghipour, H. R., & Mehrabanjoubani, P. (2020). Comparison of the effect of silicon and nano-silicon on some biochemical and photosynthetic traits of *Zea mays* L. under salinity stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, *15*(57), 23-38. (in Persian). https://doi.org/10.22069/jopp.2022.18995.2802
59. Zhang, G., Cui, Y., Ding, X., & Dai, Q. (2013). Stimulation of phenolic metabolism by silicon contributes to rice resistance to sheath blight. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *176*(1), 118-124. https://doi.org/10.1002/jpln.201200008